

and Tauchi H. Rapid Myeloid Recovery as a Possible Mechanism of Whole-Body Radioadaptive Response. *Rad. Res.* 170: 307-315 (2008).

- 3) Abe T, Ohde S, Ishimatsu S, Ogata H, Hasegawa T, Nakamura T and Tokuda Y. Effects of meteorological factors on the onset of subarachnoid hemorrhage: A time-series analysis. *J Clinical Neuroscience* 15:1005-1010 (2008).
- 4) Endo O, Matsumoto M, Inaba Y, Sugita K, Nakajima D, Goto S, Ogata H, Suzuki G. Nicotin, tar and its mutagenicity of mainstream smoke generated by machine smoking with ISO and HCl regiments of major Japanese cigarette brands. *J. Health Sci.* (2009) in press.

(後藤純雄)

- 1) Mineki S, Kawakami Y, Nakajima D, Shiozaki T, Sugita K, Takagi Y, Shiraishi F, Goto S. Recovery Rate in Condensation of Semivolatile Polycyclic Aromatic Hydrocarbon (PAH) Solutions. *Journal of Environmental Chemistry* 18 (1),43-50 (2008)
- 2) Kuramochi H, Nakajima D, Goto S, Sugita K, Wu W, Kawamoto K. HCl emission during co-pyrolysis of demolition wood with a small amount of PVC film and the effect of wood constituents on HCL emission reduction, *FUEL* 87, 2155-2157 (2008).
- 3) Takagi Y, Nakajima D, Kato Y, Okatani AT, Kohzaki K, Inaba K, Mineki S, Goto S. Mutagenicity of Surface Sand in Park Sandboxes, *Journal of Environmental Chemistry* 18 (2),187-195 (2008).
- 4) Mineki S, Kobayashi A, Kageyama S, Nakajima D, Shiraishi F, Takagi Y, Onodera S, Takeda K, Goto S. Detection of mutagenicity by Ames preincubation method of fine commercial particles,

Material Technology 26(6): 303-310 (2008).

- 5) Nakajima D, Tsukahara S, Hojo R, Kageyama S, Goto S, Shiraishi H, Shiraishi F, Fujimaki H. Volatile Measurement of Toluene Concentrations in the Blood of Fetuses of Pregnant Rats Exposed to Low Concentration Toluene using Headspace Solid Phase Micro Extraction- Gas Chromatograph- Mass Spectrometry. *Journal of Health Science* 55(1): 50-55 (2009)
- 6) Endo O, Matsumoto M, Inaba Y, Sugita K, Nakajima D, Goto S, Ogata H, Suzuki G. Nicotine, tar and mutagenicity of mainstream smoke generated by machine smoking with ISO and HCl regimens of major Japanese cigarette brands. *Journal of Health Science* (2009) in press

2. 学会発表

(緒方裕光)

- 1) 星佳芳、吉見逸郎、緒方裕光. 保健所における「がん情報」と「たばこ情報」のインターネット配信状況. 第 67 回日本公衆衛生学会総会; 2008.10; 福岡. 抄録集 p.229.
- 2) Endo O, Inaba Y, Matsumoto M, Sugita K, Goto S, Ogata H, Suzuki G. Mutagenicity of DMSO extract of mainstream smoke from major cigarettes in Japan with smoking machine: Abstracts of 37th Annual Meeting of the Japanese Environmental Mutagen Society, 2008 Dec., Okinawa
- 3) 松本真理子、遠藤治、山口一郎、稲葉洋平、緒方裕光、鈴木元. 日本人喫煙者の喫煙行動パターン及びバイオマーカーを用いた曝露評価. 日本薬学会第 129 年会, 2009 年 3 月, 京都
- 4) 稲葉洋平、松本真理子、遠藤治、杉田和俊、後藤純雄、緒方裕光、鈴木元. 酸化ストレスを指標とした喫煙による生体への影響. 日本薬学会第 129 年会, 2009 年 3 月, 京都

(後藤純雄)

- 1) Endo O, Inaba Y, Matsumoto M, Sugita K, Goto S, Ogata H, Suzuki G. Mutagenicity of DMSO extract of mainstream smoke from major cigarettes in Japan with smoking machine: Abstracts of 37th Annual Meeting of the Japanese Environmental Mutagen Society, 2008 Dec., Okinawa
- 2) 稲葉洋平、松本真理子、遠藤治、杉田和俊、後藤純雄、緒方裕光、鈴木元. 酸化ストレスを指標とした喫煙による生体への影響. 日本薬学会第129年会, 2009年3月, 京都

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

Table 1 Cigarette samples derived from TobLabNet

Sample	Chemical yield (mg/cigarette)		Source	Marking ^d
	Tar	Nicotine		
3R4F	9.4	0.73	a	35mm
1R5F	1.67	0.16	a	Already marked on the cigarette
CM6	14.4	1.38	b	30mm
Marlboro Gold UK	8	0.6	c	35mm
Marlboro Red US	10	0.8	c	28mm

a Reference Cigarette Program, University of Kentucky (<http://www.ca.uky.edu/refcig/>)

b Cooperation Center for Scientific Research Relative to Tobacco (<http://www.coresta.org/>)

c Values on package

d Mark the cigarettes at the butt length from the filter end of the cigarette in accordance with current ISO standards for the TobLabNet method validation.

Table 2 Informations for Data Reports

1	Laboratory code
2	Sample ID
3	Smoking regimen (Intense)
4	Number of cigarettes per pad
5	Number of puffs (combined for all of the cigarettes smoked on that pad)
6	Average number of puffs per cigarette
7	Total particulate matter level (mg/cig)
8	Carbon monoxide level (mg/cig)
9	Water level (mg/cig)
10	Specific method used for water determination (GC/TCD, KF, etc)
11	Nicotine level (mg/cig)
12	Specific method used for nicotine determination (GC/NPD, etc)
13	Tar level (mg/cig)
14	Comments

Table 3 Worksheet of Results from Analysis of the 3R4F Cigarettes using the Intense Regimen at National Institute of Public Health

Sample ID	Smoking Regimen	Number of cigarettes per pad	Puff number (combined)	Average puff number (/cig)	TPM (mg/cig)	CO (mg/cig)	Water (mg/cig)	Nicotine (mg/cig)	Tar (mg/cig)
NIPH-01	Intense	3	29.7	9.9	35.68	35.84	10.22	1.92	23.54
NIPH-02	Intense	3	28.0	9.3	35.11	37.41	11.43	1.90	21.78
NIPH-03	Intense	3	29.6	9.9	34.89	36.04	10.47	1.82	22.61
NIPH-04	Intense	3	28.0	9.3	35.14	40.13	10.18	1.77	23.19
NIPH-05	Intense	3	27.0	9.0	33.48	36.28	9.84	1.67	21.96
NIPH-06	Intense	3	28.1	9.4	32.31	36.08	9.15	1.74	21.42
NIPH-07	Intense	3	29.1	9.7	34.05	37.83	9.75	1.86	22.44
NIPH-08	Intense	3	29.5	9.8	33.44	36.94	9.93	1.87	21.63
NIPH-09	Intense	3	28.3	9.4	35.15	40.75	9.52	1.98	23.65
NIPH-10	Intense	3	27.0	9.0	33.41	36.82	11.12	1.84	20.45
NIPH-11	Intense	3	28.4	9.5	34.55	40.13	10.49	1.83	22.23
NIPH-12	Intense	3	28.0	9.3	35.15	39.56	10.07	1.79	23.29
NIPH-13	Intense	3	29.3	9.8	34.86	39.69	10.07	1.89	22.89
NIPH-14	Intense	3	29.5	9.8	35.51	40.26	10.72	1.94	22.86
NIPH-15	Intense	3	28.2	9.4	34.49	37.26	10.26	1.82	22.40
NIPH-16	Intense	3	29.9	10.0	34.87	39.08	10.37	1.73	22.76
NIPH-17	Intense	3	28.9	9.6	33.46	39.22	10.32	1.77	21.37
NIPH-18	Intense	3	28.5	9.5	34.99	38.81	9.95	1.83	23.21
NIPH-19	Intense	3	28.4	9.5	35.31	39.42	10.47	1.79	23.05
NIPH-20	Intense	3	29.4	9.8	35.69	39.55	10.32	1.83	23.54
NIPH-21	Intense	3	28.5	9.5	34.36	37.40	9.95	1.95	22.46
NIPH-22	Intense	3	27.9	9.3	33.56	37.98	9.04	1.88	22.65
NIPH-23	Intense	3	26.7	8.9	32.11	35.74	8.66	1.86	21.59
NIPH-24	Intense	3	26.2	8.7	32.05	36.17	8.40	2.01	21.64
NIPH-25	Intense	3	26.1	8.7	31.55	35.53	7.92	2.06	21.57
NIPH-26	Intense	3	26.1	8.7	30.02	36.25	7.08	1.96	20.97
NIPH-27	Intense	3	26.9	9.0	34.19	37.81	9.31	1.92	22.96
NIPH-28	Intense	3	27.1	9.0	33.00	37.81	9.38	1.86	21.76
NIPH-29	Intense	3	27.8	9.3	33.50	39.15	9.27	1.76	22.47
NIPH-30	Intense	3	28.7	9.6	33.81	39.62	9.73	1.69	22.38

Table 4 Worksheet of Results from Analysis of the 1R5F Cigarettes using the Intense Regimen at National Institute of Public Health

Sample ID	Smoking Regimen	Number of cigarettes per pad	Puff number (combined)	Average puff number (/cig)	TPM (mg/cig)	CO (mg/cig)	Water (mg/cig)	Nicotine (mg/cig)	Tar (mg/cig)
NIPH-01	Intense	3	19.1	6.4	22.25	30.76	7.26	0.99	14.00
NIPH-02	Intense	3	19.1	6.4	21.94	28.29	6.36	1.03	14.55
NIPH-03	Intense	3	19.1	6.4	23.09	30.13	7.48	1.13	14.49
NIPH-04	Intense	3	18.0	6.0	23.02	29.28	7.44	0.99	14.59
NIPH-05	Intense	3	17.8	5.9	20.28	29.42	5.65	0.93	13.70
NIPH-06	Intense	3	18.2	6.1	20.72	30.41	5.83	0.99	13.90
NIPH-07	Intense	3	18.5	6.2	22.74	30.86	6.93	0.98	14.83
NIPH-08	Intense	3	19.4	6.5	24.25	31.14	7.11	1.14	16.00
NIPH-09	Intense	3	19.0	6.3	21.44	30.14	6.01	1.07	14.36
NIPH-10	Intense	3	19.1	6.4	21.25	29.49	5.66	1.00	14.58
NIPH-11	Intense	3	18.9	6.3	21.38	30.44	5.67	1.06	14.65
NIPH-12	Intense	3	18.2	6.1	22.36	28.10	6.69	1.06	14.62
NIPH-13	Intense	3	18.7	6.2	21.95	30.63	6.87	1.04	14.03
NIPH-14	Intense	3	19.9	6.6	22.00	32.01	6.31	1.12	14.56
NIPH-15	Intense	3	18.4	6.1	22.21	28.68	6.84	0.91	14.45
NIPH-16	Intense	3	18.2	6.1	22.17	28.46	6.82	0.92	14.43
NIPH-17	Intense	3	18.5	6.2	22.55	28.51	6.93	0.97	14.65
NIPH-18	Intense	3	19.1	6.4	21.39	29.10	6.10	1.01	14.28
NIPH-19	Intense	3	18.3	6.1	23.09	31.12	7.21	1.02	14.86
NIPH-20	Intense	3	18.5	6.2	21.46	28.64	6.01	1.00	14.45
NIPH-21	Intense	3	18.6	6.2	21.92	30.34	6.38	0.98	14.56
NIPH-22	Intense	3	18.2	6.1	22.11	28.50	6.11	1.10	14.90
NIPH-23	Intense	3	19.2	6.4	21.52	27.65	5.83	1.01	14.68
NIPH-24	Intense	3	18.6	6.2	22.89	28.44	6.00	1.07	15.82
NIPH-25	Intense	3	19.6	6.5	22.68	27.98	6.37	1.13	15.18
NIPH-26	Intense	3	19.7	6.6	24.32	30.39	6.76	1.17	16.39
NIPH-27	Intense	3	19.1	6.4	22.86	28.94	6.55	1.12	15.19
NIPH-28	Intense	3	18.8	6.3	22.96	30.31	6.74	1.11	15.11
NIPH-29	Intense	3	17.7	5.9	22.58	29.64	6.30	1.01	15.27
NIPH-30	Intense	3	18.1	6.0	22.04	29.20	6.38	0.97	14.69

Table 5 Worksheet of Results from Analysis of the CM6 Cigarettes using the Intense Regimen at National Institute of Public Health

Sample ID	Smoking Regimen	Number of cigarettes per pad	Puff number (combined)	Average puff number (/cig)	TPM (mg/cig)	CO (mg/cig)	Water (mg/cig)	Nicotine (mg/cig)	Tar (mg/cig)
NIPH-01	Intense	3	38.2	12.7	38.03	34.93	9.14	2.86	26.02
NIPH-02	Intense	3	37.1	12.4	39.17	34.40	9.91	2.87	26.39
NIPH-03	Intense	3	36.6	12.2	37.83	35.06	9.50	2.71	25.62
NIPH-04	Intense	3	37.0	12.3	39.50	36.16	10.11	2.86	26.53
NIPH-05	Intense	3	37.5	12.5	38.03	34.49	8.73	2.71	26.59
NIPH-06	Intense	3	35.4	11.8	37.89	35.72	7.60	2.88	27.41
NIPH-07	Intense	3	36.8	12.3	38.03	35.38	8.03	2.68	27.32
NIPH-08	Intense	3	37.0	12.3	38.25	37.37	7.84	2.72	27.68
NIPH-09	Intense	3	36.4	12.1	38.82	35.64	8.12	2.69	28.01
NIPH-10	Intense	3	35.2	11.7	38.82	34.41	8.48	2.75	27.59
NIPH-11	Intense	3	36.7	12.2	37.49	36.11	7.69	2.66	27.15
NIPH-12	Intense	3	35.3	11.8	38.66	34.86	8.24	2.65	27.77
NIPH-13	Intense	3	37.7	12.6	38.27	35.19	7.78	2.75	27.74
NIPH-14	Intense	3	35.0	11.7	36.99	33.98	7.87	2.72	26.39
NIPH-15	Intense	3	34.9	11.6	37.46	36.60	7.59	2.79	27.08
NIPH-16	Intense	3	34.7	11.6	39.05	34.82	8.41	2.95	27.70
NIPH-17	Intense	3	36.1	12.0	38.55	34.85	8.50	2.75	27.30
NIPH-18	Intense	3	36.3	12.1	38.30	35.43	8.31	2.75	27.24
NIPH-19	Intense	3	36.9	12.3	39.48	36.14	8.91	2.81	27.76
NIPH-20	Intense	3	36.8	12.3	37.97	35.58	8.42	2.70	26.85
NIPH-21	Intense	3	36.1	12.0	39.77	35.41	9.17	2.84	27.76
NIPH-22	Intense	3	37.6	12.5	38.44	35.16	8.65	2.73	27.06
NIPH-23	Intense	3	37.6	12.5	38.05	34.96	8.33	2.73	26.99
NIPH-24	Intense	3	37.3	12.4	37.79	34.21	8.75	2.66	26.39
NIPH-25	Intense	3	37.9	12.6	38.89	35.72	8.76	2.70	27.43
NIPH-26	Intense	3	36.0	12.0	37.52	35.27	8.63	2.57	26.33
NIPH-27	Intense	3	35.9	12.0	38.37	37.52	8.94	2.66	26.77
NIPH-28	Intense	3	38.2	12.7	37.68	33.67	8.03	2.75	26.90
NIPH-29	Intense	3	36.1	12.0	37.96	34.00	8.21	2.67	27.08
NIPH-30	Intense	3	37.0	12.3	38.33	34.65	8.93	2.62	26.78

Table 6 Worksheet of Results from Analysis of the Marlboro Gold (UK) Cigarettes using the Intense Regimen at National Institute of Public Health

Sample ID	Smoking Regimen	Number of cigarettes per pad	Puff number (combined)	Average puff number (/cig)	TPM (mg/cig)	CO (mg/cig)	Water (mg/cig)	Nicotine (mg/cig)	Tar (mg/cig)
NIPH-01	Intense	3	24.1	8.0	32.75	29.40	9.91	1.69	21.15
NIPH-02	Intense	3	23.8	7.9	31.98	31.45	9.46	1.64	20.88
NIPH-03	Intense	3	22.0	7.3	32.05	31.58	9.65	1.63	20.77
NIPH-04	Intense	3	24.1	8.0	30.37	31.13	8.86	1.57	19.95
NIPH-05	Intense	3	23.2	7.7	31.14	30.33	9.22	1.59	20.32
NIPH-06	Intense	3	22.9	7.6	30.47	31.62	8.81	1.61	20.06
NIPH-07	Intense	3	23.2	7.7	32.94	32.65	9.52	1.65	21.77
NIPH-08	Intense	3	23.9	8.0	30.34	31.66	8.56	1.56	20.22
NIPH-09	Intense	3	22.8	7.6	29.96	31.61	8.28	1.58	20.10
NIPH-10	Intense	3	24.2	8.1	30.95	30.71	8.42	1.67	20.86
NIPH-11	Intense	3	23.8	7.9	31.43	31.33	8.74	1.67	21.02
NIPH-12	Intense	3	22.6	7.5	30.55	30.78	8.52	1.61	20.42
NIPH-13	Intense	3	22.6	7.5	29.16	31.98	8.01	1.61	19.54
NIPH-14	Intense	3	23.7	7.9	32.57	32.77	10.49	1.59	20.49
NIPH-15	Intense	3	23.8	7.9	29.61	32.31	8.20	1.56	19.85
NIPH-16	Intense	3	22.3	7.4	28.92	30.50	7.08	1.62	20.22
NIPH-17	Intense	3	24.2	8.1	31.66	33.26	8.48	1.70	21.48
NIPH-18	Intense	3	21.7	7.2	29.08	31.13	7.49	1.57	20.02
NIPH-19	Intense	3	23.3	7.8	31.05	31.49	8.80	1.65	20.60
NIPH-20	Intense	3	24.0	8.0	32.44	33.58	8.57	1.75	22.12
NIPH-21	Intense	3	23.7	7.9	31.29	32.51	8.39	1.62	21.29
NIPH-22	Intense	3	22.2	7.4	31.12	34.14	8.54	1.66	20.92
NIPH-23	Intense	3	22.5	7.5	29.38	31.23	8.26	1.54	19.58
NIPH-24	Intense	3	22.2	7.4	30.67	31.44	8.40	1.61	20.65
NIPH-25	Intense	3	23.5	7.8	31.62	32.82	8.82	1.61	21.19
NIPH-26	Intense	3	23.3	7.8	29.80	31.66	8.20	1.54	20.06
NIPH-27	Intense	3	23.8	7.9	29.96	32.67	8.02	1.52	20.43
NIPH-28	Intense	3	23.1	7.7	29.78	30.06	8.60	1.57	19.62
NIPH-29	Intense	3	23.5	7.8	30.42	32.10	9.11	1.59	19.72
NIPH-30	Intense	3	22.0	7.3	29.89	31.34	9.05	1.46	19.38

Table 7 Worksheet of Results from Analysis of the Marlboro Red (US) Cigarettes using the Intense Regimen at National Institute of Public Health

Sample ID	Smoking Regimen	Number of cigarettes per pad	Puff number (combined)	Average puff number (/cig)	TPM (mg/cig)	CO (mg/cig)	Water (mg/cig)	Nicotine (mg/cig)	Tar (mg/cig)
NIPH-01	Intense	3	29.4	9.8	46.55	34.64	14.24	2.32	29.99
NIPH-02	Intense	3	30.6	10.2	47.47	39.88	14.46	2.41	30.60
NIPH-03	Intense	3	29.3	9.8	47.94	38.10	14.37	2.42	31.16
NIPH-04	Intense	3	31.2	10.4	46.81	35.86	13.81	2.44	30.56
NIPH-05	Intense	3	29.7	9.9	45.62	35.73	13.63	2.42	29.57
NIPH-06	Intense	3	29.9	10.0	47.64	37.44	14.59	2.52	30.53
NIPH-07	Intense	3	29.5	9.8	47.53	39.56	14.77	2.38	30.38
NIPH-08	Intense	3	28.6	9.5	47.35	37.56	15.05	2.30	30.00
NIPH-09	Intense	3	30.0	10.0	43.96	34.56	13.59	2.27	28.09
NIPH-10	Intense	3	27.7	9.2	46.43	36.31	14.63	2.32	29.49
NIPH-11	Intense	3	29.8	9.9	49.02	36.64	14.90	2.46	31.65
NIPH-12	Intense	3	29.2	9.7	42.07	35.19	13.07	2.20	26.80
NIPH-13	Intense	3	27.9	9.3	44.59	34.52	13.42	2.31	28.86
NIPH-14	Intense	3	26.3	8.8	43.04	35.22	12.32	2.42	28.29
NIPH-15	Intense	3	28.6	9.5	45.21	34.64	13.42	2.35	29.44
NIPH-16	Intense	3	31.0	10.3	45.72	36.47	12.45	2.42	30.85
NIPH-17	Intense	3	29.9	10.0	44.29	35.64	12.22	2.40	29.67
NIPH-18	Intense	3	29.4	9.8	43.62	35.19	11.27	2.37	29.97
NIPH-19	Intense	3	28.6	9.5	43.82	34.80	11.61	2.33	29.88
NIPH-20	Intense	3	29.8	9.9	45.18	37.76	12.12	2.46	30.61
NIPH-21	Intense	3	30.5	10.2	48.96	34.18	14.18	2.49	32.29
NIPH-22	Intense	3	28.3	9.4	46.71	34.41	14.18	2.49	30.04
NIPH-23	Intense	3	28.7	9.6	45.62	35.66	13.16	2.42	30.03
NIPH-24	Intense	3	28.1	9.4	43.38	34.37	12.88	2.30	28.20
NIPH-25	Intense	3	28.9	9.6	46.64	34.45	13.72	2.43	30.49
NIPH-26	Intense	3	30.0	10.0	47.19	34.74	14.11	2.51	30.58
NIPH-27	Intense	3	30.1	10.0	44.99	35.09	13.24	2.46	29.29
NIPH-28	Intense	3	28.2	9.4	43.45	35.26	12.78	2.31	28.36
NIPH-29	Intense	3	29.8	9.9	49.60	36.96	14.69	2.51	32.41
NIPH-30	Intense	3	29.1	9.7	46.17	35.21	13.57	2.36	30.23

Table 8 Summary Results from Analysis of Cigarettes using the Intense Regimen at National Institute of Public Health

Cigarette		Concentration (mg / cigarette)				
		TPM	CO	Water	Nicotine	Tar
3R4F	Mean	33.99	38.02	9.78	1.85	22.36
	SD	1.36	1.61	0.91	0.09	0.81
	RSD (%)	4.00	4.24	9.34	4.98	3.62
	max	35.69	40.75	11.43	2.06	23.65
	min	30.02	35.53	7.08	1.67	20.45
1R5F	Mean	22.25	29.57	6.49	1.03	14.73
	SD	0.89	1.12	0.54	0.07	0.59
	RSD (%)	4.02	3.78	8.29	6.64	3.99
	max	24.32	32.01	7.48	1.17	16.39
	min	20.28	27.65	5.65	0.91	13.70
CM6	Mean	38.31	35.26	8.52	2.74	27.05
	SD	0.66	0.92	0.63	0.09	0.59
	RSD (%)	1.72	2.60	7.44	3.15	2.19
	max	39.77	37.52	10.11	2.95	28.01
	min	36.99	33.67	7.59	2.57	25.62
Marlboro Gold UK	Mean	30.78	31.71	8.68	1.61	20.49
	SD	1.13	1.05	0.69	0.06	0.69
	RSD (%)	3.68	3.31	7.93	3.68	3.35
	max	32.94	34.14	10.49	1.75	22.12
	min	28.92	29.40	7.08	1.46	19.38
Marlboro Red US	Mean	45.89	35.87	13.55	2.39	29.94
	SD	1.92	1.52	1.01	0.08	1.22
	RSD (%)	4.18	4.24	7.42	3.33	4.08
	max	49.60	39.88	15.05	2.52	32.41
	min	42.07	34.18	11.27	2.20	26.80

Table 9 TNCO Data with FTC/ISO Method of cigarettes tested

Cigarette	Concentration (mg / cigarette)				
	TPM	CO	Water	Nicotine	Tar
3R4F ^a	11.0	12.0	-	0.73	9.4
1R5F ^a	2.08	2.95	0.298	0.16	1.67
CM6 ^b	17.71	14.82	1.91	1.384	14.40
Marlboro Gold UK ^c	-	-	-	0.6	8
Marlboro Red US ^c	-	-	-	0.8	10

a Data from Reference Cigarette Program website

b Data from CORESTA website

c Values on package.

Table 10 HCl/ISO ratio of TNCO Data

Cigarette	HCl/ISO ratio				
	TPM	CO	Water	Nicotine	Tar
1R5F	10.7	10.0	21.8	6.44	8.82
Marlboro Gold UK	-	-	-	2.68	2.56
3R4F	3.09	3.17	-	2.53	2.38
Marlboro Red US	-	-	-	2.99	2.99
CM6	2.16	2.40	4.46	1.98	1.88
Mild Seven ONE	10.3	-	15.8	5.11	9.64
Cabin Mild	3.31	-	5.58	2.31	2.82
Mild Seven LIGHTS	3.36	-	7.26	2.30	2.67
Mild Seven Original	3.13	-	8.02	2.32	2.44
Seven Stars	2.42	-	4.58	1.99	1.97

a Data from Reference Cigarette Program website

b Data from CORESTA website

c Values on package.

喫煙装置を用いて捕集された国産主要銘柄たばこ主流煙 DMSO 抽出物の変異原性

分担研究者 遠藤 治 麻布大学 生命・環境科学部

研究要旨

昨年度の研究報告において、タール及びニコチン量を定量する ISO 標準法で採用されている 2-プロパノールを用いて抽出した国産たばこ主流煙の変異原性を報告した。一方、WHO が推薦する新しい標準法を提案しているカナダ保健省は、最近変異原性試験用抽出溶媒としてジメチルスルホキシド(DMSO)を用いることを推奨している。そこで今回喫煙装置を用いて捕集された国産主要 10 銘柄たばこ主流煙の DMSO 抽出物の変異原性を調べた。WHO プロトコルに従い、国産たばこ売れ筋 10 銘柄を対象とし、各銘柄 3 ロットを集めた。主流煙捕集は、ISO 対応喫煙装置を用い、ISO 及びカナダ保健省の両条件下で行った。DMSO 抽出溶液をサルモネラ TA100、TA98 及び YG1024 の 3 種類を用い、S9 mix による代謝活性化を行った場合と行わなかった場合の両条件下でエームス試験に供した。変異原性は、抽出溶媒の種類に関わらず、主に TA98 及び YG1024 株 S9mix 添加条件下で認められた。最も高い活性を示した銘柄は、昨年度の 2-プロパノール抽出試料では両菌株ともマイルドセブンオリジナルであったが、DMSO 抽出試料ではマイルドセブンスーパーライト (YG1024) とキャビンマイルド (TA98 株) であった。またいくつかの銘柄で、試験に供した 3 ロット間に若干大きな変動が認められた。これらの結果から、銘柄間のみならず、同一銘柄の製品ロット間にも、たばこ煙の毒性に関係する差があることが示唆された。

A. 研究目的

たばこ煙中には夥しい種類の有害化学物質が存在している[1]。昨年度の研究報告で、タール及びニコチン量を定量する ISO 標準法で使用されている 2-プロパノールで抽出した国産たばこ主流煙の変異原性を報告した[2]。一方、WHO も推薦する新しい標準法を提案しているカナダ保健省は、最近変異原性試験用抽出溶媒としてジメチルスルホキシド(DMSO)を用いることを推奨している[3]。そこで今年度は、喫煙装置を用いて捕集された国産主要 10 銘柄たばこ主流煙の DMSO 抽出物について変異原性を調べた。

B. 研究方法

(1) 試薬類

標準試料：ニコチンは和光純薬工業製のものを

いた。

溶媒：ジメチルスルホキシド (DMSO、同仁化学製蛍光分析用)、2-プロパノール (和光純薬工業製 SSG)、メタノール (和光純薬工業製残留農薬試験用)、及びジクロロメタン (DCM、和光純薬工業製残留農薬試験用) を用いた。

代謝活性化酵素系：エームステスト用 S9/コファクターAセット (S9 mix；オリエンタル酵母工業製) を用いた。

(2) たばこ試料

国産主要 10 銘柄を試験に供した。これらは日本たばこ産業株式会社 (JT) 公表値に基づく 2006 年度国内販売実績上位国産 10 銘柄である。TobLabNet プロトコルに従い、同一銘柄 3 ロットのニコチン量、タール量を測定するため、各銘柄とも少なくとも東京地区 3 箇所で購入した。Table 1 に試験

に供したたばこの特徴をまとめた。

(3) 喫煙装置によるたばこ煙の捕集

たばこ煙の捕集には、ISO 対応型の Borgwaldt LM1 喫煙装置 (ドイツ Borgwaldt KC 社製) を用いた。たばこ試料は ISO 3402 (1999) [4] に従って調製した。総粒子状物質 (TPM, 別名粗タール) は専用のガラス繊維ろ紙 (Cambridge filter pad, 直径 44mm) に捕集した。ISO/FTC 条件による捕集は ISO 4387 (2000) [5] に準じた。カナダ保健省 (HCI) 条件による捕集はカナダ保健省 T-115 [6] に準じた。

(4) 抽出

変異原性試験用試料は、TPM 秤量後、DMSO (抽出溶媒の比較実験では、さらに 2-プロパノール、メタノール、及び DCM) を用いて室温で 20 分間静かに振盪抽出を行った。

(5) ニコチン及び水分量

ニコチン及び水分量は、カナダ法においても ISO 法と同様に 2-プロパノール抽出を行って定量する必要があるため、昨年度の測定データを準用した。すなわち、ニコチン量は ISO 10315 (2000) [7] に準じて、若干の改良を加えたガスクロマトグラフィー質量分析 (GC/MS) 法 [8] により分析し、水分量は ISO 10362-1 (1999) [9] に準じて、ガスクロマトグラフィー熱伝導度検出器 (GC/TCD) を用いて測定した。

(6) 変異原性試験

変異原性試験は昨年度同様、ブレインキューベーション法 [10] により試験した。菌株はサルモネラ TA100、TA98 及び YG1024 [11] の 3 種類を用い、S9 mix による代謝活性化を行った場合と行わなかった場合の両条件下で実施した。

C. 研究結果

(1) 抽出溶媒の比較

カナダ保健省は変異原性試験用抽出溶媒として DMSO を用いることを推奨している [3]。そこで抽出溶媒を比較する予備的検討を行った。昨年度実施した 2-プロパノール抽出物の変異原性試験で最も強い変異原性を示したマイルドセブンオリジナル (HCI 条件) を試料として、DMSO 抽出物と 2-プロパノール抽出物の変異原性を比較し

た。また、大気浮遊粉じんなど空気中の発がん関連物質を含有する試料の変異原性試験用抽出溶媒として汎用されているメタノール及び DCM も加え、4 種類の溶媒を比較した。変異原性試験は TA98 及び YG1024 の 2 菌株を用い、S9 mix 添加条件下で行った。その結果を Fig.1 に示す。Fig.1 から、いずれの菌株に対しても、ほぼ同様の用量-反応関係が認められ、立ち上がりの直線的な部分から算出した変異原比活性は、いずれも DMSO が他の溶媒に比べて若干高い値を示した。これらの結果から、カナダ保健省が推奨する DMSO を変異原性試験用抽出溶媒として用いて試験を行うこととした。

(2) DMSO 抽出試料の変異原性測定結果

Table 2 に、TPM、ニコチン、水分、タール量及び変異原性の測定結果を示す。銘柄ごとに、ISO 及び HCI 両喫煙条件下における、供試 3 ロットの測定結果を示してある。TPM、ニコチン、水分、タール量はたばこ 1 本当たりの重量で表し、2-プロパノール抽出を行って定量する必要があるニコチン及び水分量は、昨年度の測定データを準用した。変異原比活性は用量-反応曲線の直線的な部分から最小自乗法による直線回帰式を求め、その傾きからたばこ 1 本当たりの復帰突然変異コロニー数として算出した。括弧内の数値は擬陽性例 (溶媒対照値の 1.5~2 倍のコロニー計数値が認められ、用量-反応関係が認められるもの) である。陰性例 (コロニー計数値が溶媒対照値の 1.5 倍に満たないもの) は“neg”としてある。

この表から、たばこ試料の DMSO 抽出物の変異原性は、昨年度の 2-プロパノール抽出物と同様、主に TA98 及び YG1024 に対して、S9mix 添加条件下で認められた。TA98 及び YG1024、S9mix 添加条件下では、銘柄、捕集条件、製品ロットにかかわらず、試験に供した 60 試料すべて明瞭な変異原性陽性であった。これに対し、S9 mix 無添加条件下では半数以上の試料で変異原性が認められず、TA98 株に対しては 60 試料中、陽性 16 例、擬陽性 14 例、陰性 30 例、YG1024 株に対しては、陽性 15 例、擬陽性 11 例、陰性 34 例であった。一方、塩基対置換型の突然変異を検出する TA100 株に対しては、S9 mix 無添加条件下では被験 60

試料中、陽性 4 例、擬陽性 31 例、陰性 25 例であった。また S9 mix 添加条件下では 60 試料中、陽性 17 例、擬陽性 36 例、陰性 7 例であった。60 試料中最も高い活性を示したものは銘柄 E / 製品ロット II / HCl 条件の試料であった (YG1024+S9 で 137,000 rev./cigarette)。

D. 考察

歴史的に、たばこ煙に関する最も一般的な測定法は、米国連邦取引委員会 (FTC) 並びに国際標準化機構 (ISO) で定められた試験条件に基づく人工喫煙装置による、たばこ 1 本当たりのタール、ニコチン、及び一酸化炭素 (TNCO) 量の測定である。わが国でも、たばこ事業法に基づく大蔵 (現財務) 省令で定められたタール量及びニコチン量の測定 [12] は、この FTC/ISO に準じている。TobLabNet ラウンドロビン研究報告でも述べているように、WHO はカナダ保健省が規定するインテンス法 (HCl 法) を推奨しており、第 2 回ラウンドロビンとして、HCl 法による測定手法のバリデーションが実施されている。

昨年度の本研究報告において、タール量を求めるために必要な水分及びニコチン量を定量する場合、ISO 及び HCl 両法で採用されている 2-プロパノールを用いて抽出した国産たばこ主流煙の変異原性を調べ、主に TA98 及び YG1024 株 S9mix 添加条件下で認められ、いずれも HCl 条件で得られた試料の方が ISO 条件よりも数倍高い活性が得られることや、HCl 条件で捕集された低タールたばこの変異原性は、ISO 条件で捕集されたタール量の多い親銘柄の変異原性よりも高く、“低タール” と表示されているたばこであってもヒトへの曝露量やリスクの低減には必ずしも結びつかないと示唆されることなどを報告した [2]。

カナダ保健省は「たばこ主流煙の細菌を用いる復帰突然変異試験」(カナダ保健省公定法 T-501) を発表しているが、そこでは抽出溶媒として DMSO が使用されている [3]。

研究結果の項でも述べたように、抽出溶媒の比較検討結果ならびに DMSO 抽出物の変異原性試験結果から、昨年度の 2-プロパノール抽出物と同様、主に TA98 及び YG1024 に対して、S9mix 添

加条件下で認められることが判った。

Fig. 2 は、国産たばこ主要 10 銘柄 DMSO 抽出物の変異原比活性 (YG1024 株 S9mix 添加条件下、3 ロット平均値) を図示したものである。Fig. 2 から、DMSO 抽出物の変異原性も、全体的な傾向として、いずれも HCl 条件で得られた試料の方が ISO 条件よりも数倍高い活性が得られることや、HCl 条件で捕集された低タールたばこの変異原性は、ISO 条件で捕集されたタール量の多い親銘柄の変異原性よりも高く、“低タール” と表示されているたばこであってもヒトへの曝露量やリスクの低減には必ずしも結びつかないと示唆されることなど、昨年度の 2-プロパノール抽出物とほぼ同様のパターンを示すことが判った。

Fig. 3 は、今回測定した 10 銘柄、3 ロット、2 喫煙条件 (ISO 及び HCl)、すなわち被験全 60 試料のタール量 (実測値) と変異原比活性 (YG1024 株 S9mix 添加条件下) の相関を示したものである。Fig. 3 から、タール量の低い領域 (主に ISO 条件) では変異原性もタール量にほぼ比例しているのに対し、タール量の高い領域 (主に HCl 条件) では明瞭な比例関係が認められなくなることが判った。また、Fig. 2 から明らかのように“低タール” と表示されているライトタイプ銘柄の方がレギュラータイプ銘柄より変異原比活性が高くなることもあり、Fig. 3 でも、喫煙条件 (ISO△、HCl○) 別にみると、タール量の高いものの方がむしろ変異原比活性は低くなっていることが判る。

Fig. 4~6 は、銘柄・喫煙条件別に、タール量と変異原比活性のロット間のばらつきを示したものである。Table 3 から 3 ロットの相対標準偏差 (RSD; 変動係数%) を算出し、パッケージ表示タール量の順にプロットした。

Fig. 4 から、タール量の RSD は、銘柄・喫煙条件にかかわらず、ほぼ 10% 以内となっており、さほど大きなロット間のばらつきは見られなかった。これに対し、変異原比活性は、ロット間で若干大きなばらつきが認められた。Fig. 5 は TA98 株 S9mix 添加条件下の変異原比活性の RSD を示したものであるが、喫煙条件による差異が見られた。HCl 条件では銘柄間の差異もなく、いずれの銘柄も RSD は 20% 以内であった。一方 ISO 条件では、

銘柄 J を除いて、いずれの銘柄も HCl 条件より大きな RSD が認められ、低タール銘柄ほどその差が大きくなる傾向が認められた。Fig.6 は YG1024 株 S9mix 添加条件下の変異原比活性の RSD を示したものであるが、喫煙条件による差異は認められなかったものの、銘柄による差異が若干認められた。すなわち、パッケージ表示タール量が 8mg 以上の銘柄ではいずれの銘柄も RSD は 20% 以内であったが、それより低いタール量を謳っている銘柄で比較的大きな RSD を示す場合があった。

一般に、生物試験の測定値のばらつきは、化学分析のそれより大きくなることが知られている。エームス試験に代表される微生物を用いた変異原性試験は世界中で広く用いられており、試験結果の変動に関する研究も少なくない。たばこのように、空気汚染に関係する複合物質に関する検討も行われており、試料調製や変異原性試験条件により、研究室間変動は 16~88%、研究室間変動は 33~125% に達するという国際化学物質安全性計画 (IPCS) の研究報告もある [13,14]。本研究も実験日を変えた複数回の変異原性試験が必要であったので、変異原性試験の変動を観察するために、共通のたばこ抽出試料 (マイルドセブンスーパーライト/HCl 条件) を別途調製し、YG1024 株 S9mix 添加条件下で変異原性試験に供した。その結果、実験日を変えて行った 4 回にわたる試験結果の RSD は 15% であった。また同じ共通たばこ試料を複数個用いて同一実験日に変異原性試験を行ったところ、試験誤差は YG1024 株 S9mix 添加条件下で 8.6% (n=6)、TA98 株 S9mix 添加条件下で 5.4% (n=6) であった。これらの結果を考え合わせると、Fig.5 及び Fig.6 で認められた 20% 以上の RSD を示したたばこ銘柄では、ロット間の差も反映されている可能性が高いと考えられる。

また、銘柄、捕集条件、製品ロットにかかわらず、試験に供したすべての試料で明瞭な変異原性が認められた TA98 及び YG1024、S9mix 添加条件下以外の試験条件でも、3 ロット間で異なる結果が得られる場合も見られた。すなわち Table 2 から、銘柄 B (HCl、YG1024-S9)、D (HCl、TA100-S9)、E (HCl、TA98-S9)、F (ISO 及

び HCl、ともに TA98-S9)、G (HCl、TA98-S9)、H (ISO、TA100-S9 及び HCl、TA98-S9)、I (HCl、YG1024-S9)、J (HCl、TA100-S9) では、いずれも供試 3 ロット間で陽性、擬陽性、陰性と異なる判定となっている。これらは明瞭な変異原性が認められる TA98 及び YG1024、S9mix 添加条件下における結果と比較して、陽性例の変異原比活性はかなり低い (1/10 以下のものが多く、中には比活性が二桁低いものもある) ため、たばこ銘柄の総合的な毒性評価を行う上ではさほど大きな障害にはならないと考えられるが、ロット差や試験精度などを考慮する上で今後の課題になると考えられる。

前述の IPCS の研究報告では、このような複合物質の変異原性試験を実施する場合、組成の類似した標準試料を取り入れることにより、変動を小さくすることが可能で、試験結果の精度管理に有効であるとされている [14]。また同様の結果が Matsushita らによっても報告されている [15]。

これらのことを考え合わせると、今後たばこ試料の変異原性試験をはじめとする毒性試験を実施する上で、ラウンドロビン研究でも検討されている標準たばこ試料など、標準化試料の導入が必要であると考えられる。

また 2007 年には、受動喫煙の要因となっている、たばこ副流煙に関する新しい国際標準 (ISO20773 など) [16] も公表されたことから、今後主流煙のみならず副流煙についても、その有害化学物質や毒性試験について検討を進めることが重要であると思われる。

E. 結論

(1) 変異原性は、抽出溶媒の種類に関わらず、主に TA98 及び YG1024 株 S9mix 添加条件下で認められた。

(2) 最も高い活性を示した銘柄は、DMSO 抽出試料ではマイルドセブンスーパーライト (YG1024) とキャビンマイルド (TA98 株) であったが、2-プロパノール抽出試料では両菌株ともマイルドセブンオリジナルであった。

(3) またいくつかの銘柄で、試験に供した 3 ロット間に若干大きな変動係数が認められた。これ

らの結果から、銘柄間のみならず、同一銘柄の製品ロット間にも、たばこ煙の毒性に関係する差があることが示唆された。

[引用文献]

- 1) IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans (2004) VOLUME 83 Tobacco Smoke and Involuntary Smoking, WHO IARC, Lyon, France
- 2) 遠藤治(2008) 喫煙装置を用いて捕集された国産主要銘柄たばこ主流煙の変異原性、厚生労働科学研究費補助金(第3次対がん総合戦略研究事業)たばこ規制枠組条約に基づく有害化学物質の新しい国際標準化試験法に関する研究平成19年度総括・分担研究報告書 56-67
- 3) Health Canada (2004) Bacterial Reverse Mutation Assay for Mainstream Tobacco Smoke. Official method T-501, pp.1-19.
- 4) ISO 3402 (1999) Tobacco and Tobacco Products – Atmosphere for Conditioning and Testing. 4th ed., International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
- 5) ISO 4387 (2000) Cigarettes – Determination of Total and Nicotine-Free Dry Particulate Matter Using a Routine Analytical Smoking Machine. 3rd ed., International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
- 6) Health Canada (1999) Determination of “Tar”, Nicotine and Carbon Monoxide in Mainstream Tobacco Smoke. Official method T-115, pp.1-7. Available at http://www.hc-sc.gc.ca/hl-vs/tobac-tabac/legislation/reg/indust/method/_side-second/nicotine_e.html.
- 7) ISO 10315 (2000) Cigarettes – determination of Nicotine in Smoke Condensates – Gas-chromatographic method. 2nd ed., International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
- 8) ISO 10362-1 (1999) Cigarettes – determination of Water in Smoke Condensates – Part 1: Gas-chromatographic method. 2nd ed., International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
- 9) 松本真理子、杉田和俊、小谷野道子、遠藤治、後藤純雄、鈴木元(2006) ニコチン分析に用いるGC/MSカラムの比較検討. 平成18年度室内環境学会総会・研究発表会講演集(室内環境学会誌) 9, 48-49
- 10) Maron D M, Ames B N (1983) Revised Methods for the Salmonella Mutagenicity Test, Mutation Res., 113, 173-215
- 11) 能美健彦(1993) ニトロアレーン、芳香族アミンに高感受性を示すサルモネラ菌株の開発、環境変異原研究, 15, 1-11
- 12) たばこ煙中に含まれるタール量及びニコチン量の測定方法(1989) 大蔵省告示第174号(最終改正2003年11月13日、財務省告示第667号)
- 13) Claxton LD, Creason J, Leroux B, Agurell E, Bagley S, Bryant DW, Courtois YA, Douglas G, Clare CB, Goto S, Quillardet P, Jagannath DR, Kataoka K, Mohn G, Nielsen PA, Ong T, Pedersen TC, Shimizu H, Nylund L, Tokiwa H, Vink GJ, Wang Y, Warshawsky D (1992) Results of IPCS collaborative study on complex mixtures, Mutation Res., 276, 23-32
- 14) Claxton LD, Douglas G, Krewski D, Lewtas J, Matsushita H, Rosenkrantz HS (1992) Overview, conclusions and recommendations of the IPCS collaborative study on complex mixtures, Mutation Res., 276, 61-80
- 15) Matsushita H, Endo O, Goto S, Shimizu H, Matsumoto H, Tamakawa K, Endo T, Sakabe Y, Tokiwa H, Ando M (1992) Collaborative study using the preincubation Salmonella typhimurium mutation assay for airborne particulate matter in Japan. A trial to minimize interlaboratory variation, Mutation Res., 271, 1-12
- 16) ISO 20773 (2007) Cigarettes – Determination of Nicotine-Free Dry Particulate Matter and Nicotine in Sidestream Smoke – Method Using

a Routine Analytical Linear Smoking Machine Equipped with a Fishtai Chimney. 1st ed., International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 遠藤治. WHO TobReg 提言の解説～ TobaccoControl の論文の概要と解説. 日本禁煙医師連盟通信, 17 : 4-6 (2008).
- 2) Endo O, Matsumoto M, Inaba Y, Sugita K, Nakajima D, Goto S, Ogata H, Suzuki G. Nicotine, tar and mutagenicity of mainstream smoke generated by machine smoking with ISO and HCI regimens of major Japanese cigarette brands. Journal of Health Science (2009) in press
- 3)

2. 学会発表

- 1) Endo O, Inaba Y, Matsumoto M, Sugita K, Goto S, Ogata H, Suzuki G. Mutagenicity of DMSO extract of mainstream smoke from major cigarettes in Japan with smoking machine: Abstracts of 37th Annual Meeting of the Japanese Environmental Mutagen Society, 2008 Dec., Okinawa
- 2) 松本真理子、遠藤治、山口一郎、稲葉洋平、緒方裕光、鈴木元. 日本人喫煙者の喫煙行動パターン及びバイオマーカーを用いた曝露評価. 日本薬学会第 129 年会, 2009 年 3 月, 京都
- 3) 稲葉洋平、松本真理子、遠藤治、杉田和俊、後藤純雄、緒方裕光、鈴木元. 酸化ストレスを指標とした喫煙による生体への影響. 日本薬学会第 129 年会, 2009 年 3 月, 京都

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

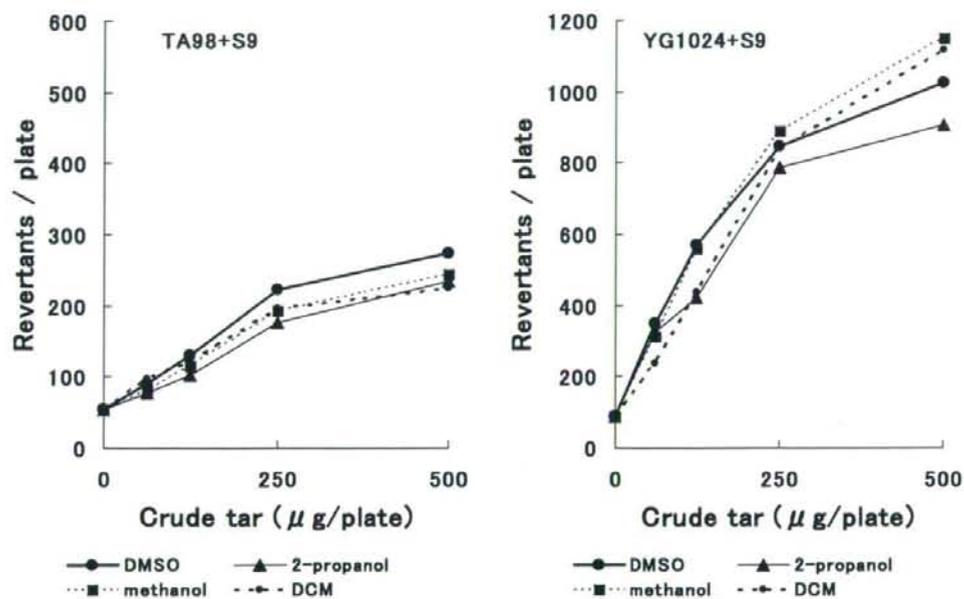


Fig. 1 A Comparison of Extraction Solvents for Mutagenicity of cigarette mainstream smoke
 Assay was conducted by a preincubation method using Salmonella TA98 and YG1024 strains under the conditions of with rat liver S9 mix.

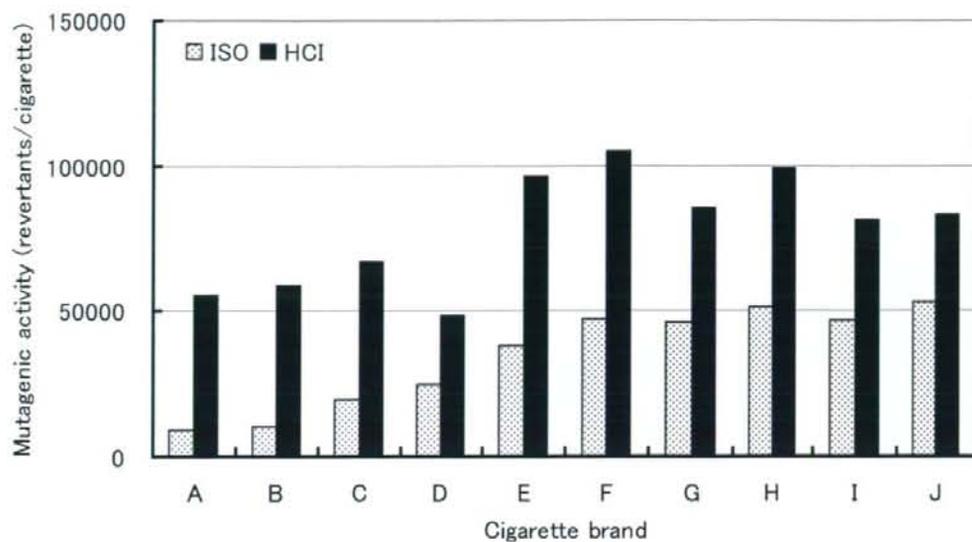


Fig. 2 Mutagenic activity of DMSO extracts of major cigarettes in Japan
 The dotted bar represents results with ISO regimen and the closed bar represents those with HCI regimen.
 Mutagenicity test was conducted by preincubation procedure using Salmonella YG1024 strains with S9 mix.

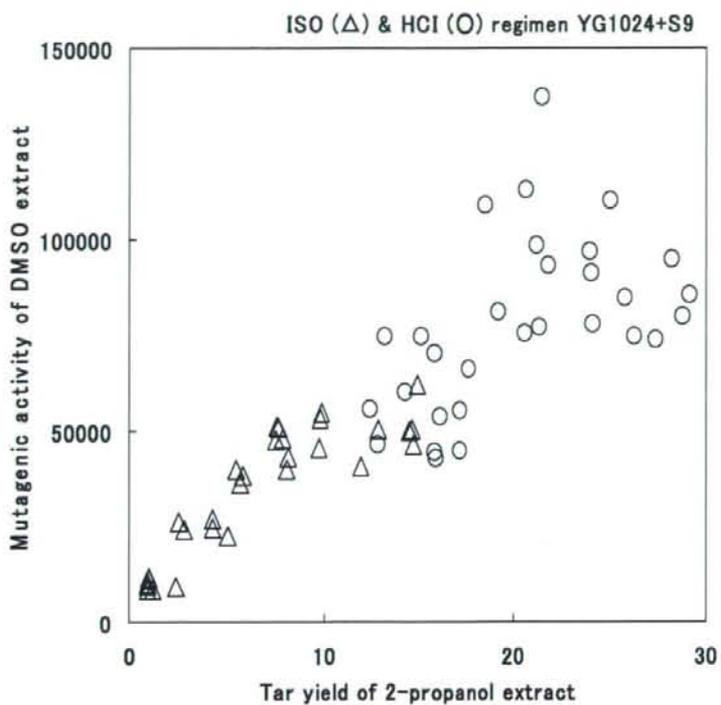


Fig. 3 Relationship between tar yield and mutagenic activity

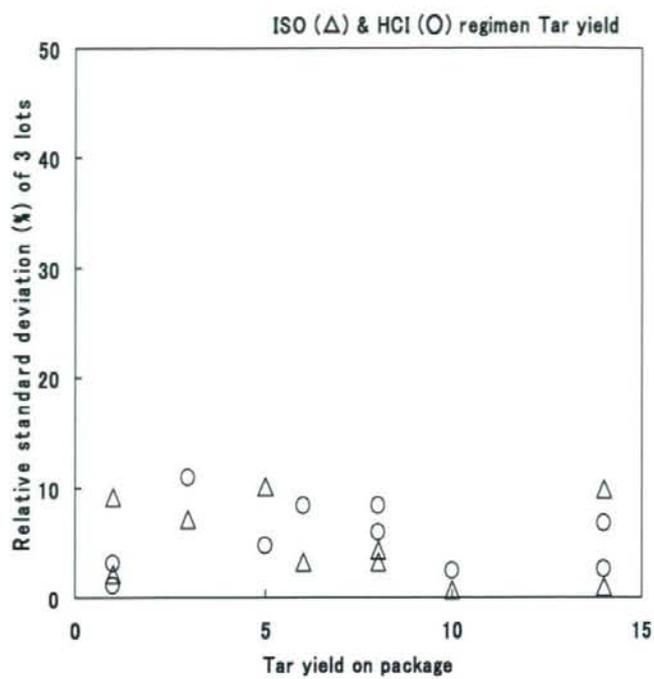


Fig. 4 Relationship between RSD of 3 product lots for tar yield and tar yield on package